ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 37, 5, 2003

УДК 576.895.122:594.124

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЕРОЯТНОСТНОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАРАЖЕННОСТИ БЕЛОМОРСКИХ МИДИЙ (MYTILUS EDULIS) МЕТАЦЕРКАРИЯМИ HIMASTHLA ELONGATA (TREMATODA: ECHINOSTOMIDAE)

© И. А. Левакин, К. Е. Николаев

В статье делается попытка описания зараженности беломорских мидий *Mytilus edulis* (Mollusca: Bivalvia) метацеркариями *Himasthla elongata* (Trematoda: Echinostomidae) на основе простой вероятностной модели.

В ряде случаев экспериментальное изучение биологических процессов, протекающих в природе, оказывается затруднительным. Такие ситуации часто складываются при проведении эколого-паразитологических исследований. Например, успех реализации жизненного цикла паразита в природе определяется очень сложным комплексом абиотических и биотических факторов, контролируемое воспроизведение которого в лабораторных условиях часто оказывается невозможным. Обычным подходом к описанию изучаемого процесса в таких случаях является математическое моделирование. Действительно, математическое моделирование широко практикуется в современной экологической паразитологии (Anderson,1985,1987; Anderson, May, 1985). При этом используются как имитационные, так и концептуальные, или аналитические, модели.

При построении имитационной модели основной задачей является отыскание некоторой функции, описывающей изучаемый процесс в определенной области изменения аргумента, а также подбор значений параметров этой функции, при которых будет достигаться наилучшее соответствие модели с действительностью. Однако функция, лежащая в основе имитационной модели, необязательно отражает закономерности, по которым развивается моделируемый процесс. Поэтому если аргумент выходит за пределы заданного диапазона, то такая модель теряет прогностические свойства. В то же время эмпирически подобранная форма зависимости может очень точно отражать моделируемый процесс в этом диапазоне.

Концептуальные, или аналитические, модели строятся на основе определенных предположений относительно моделируемого процесса и влияющих на него факторов. Их ценность состоит прежде всего в том, что сопоставление поведения такой модели с природными наблюдениями позволяет сделать вывод о справедливости предположений, лежащих в основе модели. Таким образом, можно оценить, какие факторы играют ключевую роль при реализации моделируемого процесса в природе. Именно этот подход мы использовали при анализе зараженности мидий *Mytilus edulis* (Mollusca: Bivalvia) метацеркариями *Himasthla elongata* (Trematoda: Echinostomidae).

Мидия съедобная (*Mytilus edulis*) представляет собой один из важнейших компонентов биоценозов литорали и верхней сублиторали Белого моря, где зачастую является видом-эдификатором (Луканин, 1985; Сухотин, 1993). Моллюски имеют относительно долгоживущую планктонную личинку, что обеспечивает их широкое распространение. Максимальная продолжительность жизни мидии в Белом море составляет 10—11 лет. В течение всей жизни моллюски способны к локальным перемещениям (Луканин, Ошурков, 1981; Луканин, Лангуев, 1982; Бергер и др., 1985).

Жизненный цикл *Himasthla elongata* был подробно описан Вердингом (Werding, 1969) на побережье Северного моря. Первым промежуточным хозяином для этого паразита служат литоральные переднежаберные моллюски *Littorina littorea, L. saxatilis* и *L. obtusata.* В течение теплого сезона из первых промежуточных хозяев выходят активно плавающие личинки паразита — церкарии. После встречи с подходящим вторым промежуточным хозяином, в роли которого часто выступает мидия, церкарии активно внедряются через его покровы и инцистируются в мышечной ткани ноги моллюска, превращаясь в покоящуюся стадию — метацеркарию.

МАТЕРИЛ И МЕТОДЫ

Сбор материала. Мидий собирали на литорали бухты Круглая губы Чупа Кандалакшского залива Белого моря. Пробы отбирали в пределах пояса фукоидов одновременно у нуля глубин и в средней части пояса. Всего было проведено 9 съемок в различные сезоны (ноябрь 1999 г., март, август, ноябрь 2000 г., март, август, ноябрь 2001 г., март, июнь 2002 г.). У каждого моллюска измеряли длину раковины и определяли возраст по линиям зимней остановки роста (Чемоданов, Максимович, 1983; Сиренко, Саранчова, 1985). После этого моллюсков вскрывали, а их мягкие ткани продавливали между двумя предметными стеклами и просматривали под бинокуляром при увеличении ×28. При этом для каждой вскрытой особи регистрировали наличие и количество метацеркарий *Himasthla elongata.* Всего было вскрыто 1152 моллюска возрастом от 1 до 9 лет.

Описание модели. При построении модели, описывающей зараженность мидий метацеркариями *Himasthla elongata* в зависимости от выраженного в годах возраста моллюска-хозяина, исходили из следующих предположений: 1) хозяин в течение всей своей жизни постоянно или периодически может вступать в контакт с инвазионным началом; 2) вероятность заражения одинакова для всех особей хозяина и не меняется с его возрастом (хозяин заражается в каждый следующий год вне зависимости от заражения в предшествующий период времени); 3) освобождение зараженного хозяина от паразита невозможно.

Обозначим вероятность заражения особи хозяина паразитом в течение одного года жизни как p, а вероятность оказаться зараженным через n лет как P_n. Очевидно, что вероятность остаться незараженным на протяжении того же года будет равна $1-p$, а по достижении n-летнего возраста окажется равной $1-P_n$. Модель основывается на предположении, что хозяин заражается каждый год вне зависимости от заражения в предшествующий период времени. Таким образом, чтобы остаться незараженным к n-летнему возрасту, хозяин должен ни разу не заразиться в течение n лет, иными словами хозяин должен не заразиться n раз при вероятности остаться незараженным в течение года $1-p$. Поскольку вероятность совокупности независимых событий равна произведению их вероятностей, вероятность остаться незараженным по достижении n-летнего окажется равной:

$$1 - P_n = (1 - p)^n. \tag{1}$$

Соответственно вероятность оказаться зараженным через n лет будет

$$P_n = 1 - (1 - p)^n. \tag{2}$$

Полученная формула позволяет, исходя из вероятности заражения за год (p), вычислить вероятность оказаться зараженным по достижении любого возраста n и соответственно теоретическую зараженность n-летних особей хозяина. Таким образом, единственным параметром модели (1) оказывается p — вероятность заражения особи хозяина за один год.

Для оценки значения этого параметра был использован следующий подход. Равенство (1) иначе можно записать как

$$p = 1 - \sqrt[n]{1 - P_n}. \tag{3}$$

Если в этом выражении (3) вероятность оказаться зараженным по достижении n-летнего возраста P_n заменить ее выборочной оценкой — долей зараженных I_n, то мы придем к оценке вероятности заразиться в течение одного года по выборке n-летних особей:

$$p_n' = 1 - \sqrt[n]{1 - I_n}. \tag{4}$$

Статистическая обработка. Перед анализом данные по зараженности мидий были объединены для всех мест и сроков взятия проб. В качестве оценки значения вероятности заражения за один год (параметр модели p) использовалась средневзвешенная arcsin-преобразованных выборочных оценок этой вероятности (p'_n), которая затем подвергалась обратному преобразованию. При вычислении средневзвешенной вероятности из анализа исключались выборки со 100 %-ной зараженностью. Для определения доверительного интервала средневзвешенной вероятности в качестве объема выборки была использована суммарная численность выборок, включенных в анализ.

Для вычисления доверительных интервалов долей использовалась точная формула Фишера. Доверительные интервалы медиан вычислялись по точной формуле, приводимой Животовским (1991). Для определения статистической достоверности различий между эмпирической (природной) и теоретической (смоделированной) зараженностями использовался критерий χ^2. Для определения статистической достоверности различий в попарных сравнениях долей использовался точный критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по зараженности мидий разного возраста и рассчитанные на их основании оценки вероятности заражения за один год жизни приведены в таблице. Вычисленная по этим данным оценка вероятности заразиться в течение года p' оказалась равной 0.3476 (0.3196—0.3761). При использовании этого значения в качестве параметра модели (2) не было обнаружено статистически значимых различий между природной и смоделированной зараженностями ($P \gg 0.05$). Более того, статистически значимые различия отсутствовали ($P > 0.05$) при попарном сравнении эмпирической (I_n) и теоретической (P_n) зараженностей в пределах любого возраста n (рис. 1). Медианная интенсивность инвазии составила 5 (4—6) метацеркарий на одну зараженную особь.

Зараженность мидий разного возраста в бухте Круглая

Infection rate in mussels of different ages from the Kruglaya inlet

Возраст мидии, *n* (годы)	Число вскрытых мидий, N_n	Доля мидий, зараженных *H. elongata*, I_n	Оценка вероятности заразиться за один год, p_n
1	23	0.3478	0.3478
2	108	0.4815	0.2799
3	136	0.7132	0.3406
4	147	0.8912	0.4256
5	171	0.9006	0.3698
6	218	0.9358	0.3672
7	174	0.954	0.3559
8	115	0.8957	0.2461
9	60	1	

Представленная модель зараженности мидий метацеркариями *Himasthla elongata* в зависимости от возраста хозяина (2) исходит из отсутствия влияния на зараженность таких факторов, как различия в индивидуальной резистентности хозяина к заражению, миграция особей хозяина, изменение вероятности заражения с возрастом особи и изменение жизнеспособности зараженного хозяина. Отсутствие достоверных различий между эмпирической и теоретической зараженностью (рис. 1) позволяет предположить, что указанные факторы в условиях бухты Круглая не оказывают существенного влияния на зараженность мидии метацеркариями *H. elongata*.

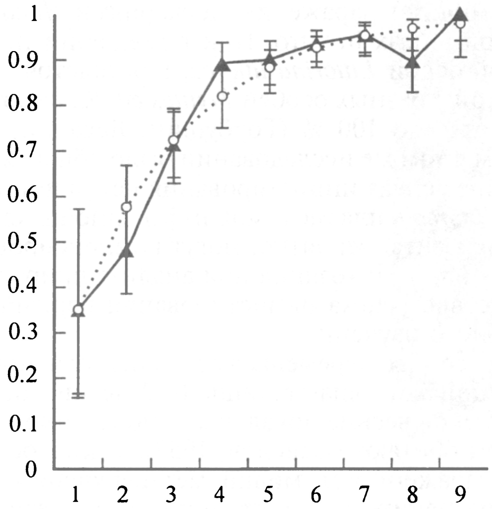

Рис. 1. Природная экстенсивность инвазии *Mytilus edulis* метацеркариями *Himasthla elongata* на литорали бухты Круглая (эмпирическая) и теоретическая (рассчитанная на основании модели без учета дифференциальной смертности).

По оси абсцисс — возраст мидий (годы); по оси ординат — доля моллюсков, зараженных *H. elongata*. Черные треугольники — эмпирические данные; светлые кружки — результаты расчетов.

Fig. 1. Empirical (solid line with black triangles) and theoretical (dashed line with white circles) parts of *Mytilus edulis* infected metacercariae of *Himasthla elongata* in the inlet Kruglaya depending on host age.

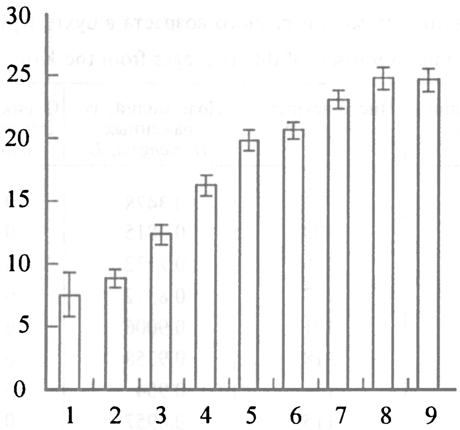

Рис 2. Средний размер раковины мидий, собранных на литорали бухты Круглая.

По оси абсцисс — возраст мидий, в годах; по оси ординат — размер моллюсков (мм).

Fig. 2. Mean concha size of mussels collected on a littoral fringe of the Kruglaya inlet.

Наличие резистентных к заражению мидий должно приводить к уменьшению доли зараженных особей. Причем этот эффект должен усиливаться с возрастанием вероятности заражения (P_n), что приводило бы к снижению оценок вероятности заражения в течение одного года (p'_n) с увеличением возраста мидий (n). Отсутствие подобного эффекта (см. таблицу) позволяет сделать вывод об отсутствии влияния резистентности хозяина на зараженность мидий метацеркариями *Himasthla elongata* в условиях бухты Круглая. Этот вывод находится в некотором противоречии с существенными различиями в индивидуальной резистентности мидий к заражению церкариями *Himasthla elongata*, обнаруженными в экспериментах in vitro. При помещении церкарий этого вида, полученных из одной особи *Littorina littorea*, в бесклеточную фракцию (плазму) гемолимфы, взятой у разных особей *Mytilus edulis*, смертность личинок паразита варьировала от 4 до 100 % (Горбушин, Левакин, неопубликованные данные). Вместе с тем в том же исследовании было обнаружено столь же существенное варьирование успеха инцистирования церкарий, полученных из разных особей *Littorina littorea* в плазме гемолимфы одной мидии. Такие различия в «инвазионности» паразита, вероятно, могут компенсировать различия в индивидуальной резистентности хозяина при анализе природной зараженности. Кроме того, соответствие успеха инцистирования церкарий in vitro и in vivo требует дополнительного изучения.

Хотя мидии и способны перемещаться, используя ногу, сколько-нибудь значительные миграции совершают лишь 1—2-летние особи. Перемещения более старших моллюсков весьма локальны — последние не выходят за пределы биотопа в котором обитают (Савилов, 1953). Таким образом, влияние миграции хозяина на зараженность мидий метацеркариями *Himasthla elongata* оказывается весьма незначительным, что и подтверждается хорошим согласованием модели с природными наблюдениями.

Известно, что скорость фильтрации у мидий значительно увеличивается с размером особи (Jørgensen, 1990; Winter, 1978). Средний размер мидий, собранных на литорали бухты Круглая, увеличивался с возрастом очень сильно (рис. 2). Однако заметного повышения вероятности заражения в течение года при этом не происходит (см. таблицу). По-видимому, фильтрационная активность хозяина в условиях бухты Круглая не оказывает существенного влияния на успех его заражения.

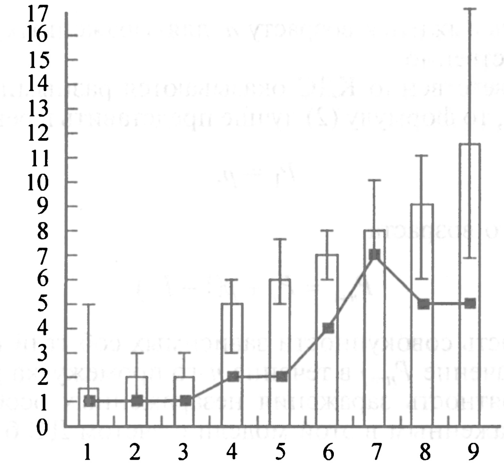

Рис. 3. Интенсивность инвазии *Mytilus edulis*, зараженных метацеркариями *Himasthla elongata* на литорали бухты Круглая в зависимости от возраста.

По оси абсцисс — возраст мидий, в годах; по оси ординат — число метацеркарий в моллюсках. Светлые прямоугольники — медиана; черные квадраты — мода.

Fig. 3. Intensity of invasion in *Mytilus edulis* infected with metacercariae of *Himasthla elongata* in intertidal the zone of the Kruglaya inlet depending on host age.

Некоторые расхождения между зараженностью, предсказываемой моделью, и реальной все же существуют. Для 8-летних мидий такие различия близки к статистически значимым ($P = 0.0667$). Возможно, что такая ситуация является следствием недостаточного объема выборки и при бóльших численностях указанные различия могли бы оказаться достоверными. Отсутствие различий между теоретической зараженностью и эмпирической у 9-летних особей также явно вызвано малым объемом выборки. При вероятности заражения в течение года, равной 0.3476, модель (2) предсказывает 97.86 %-ную зараженность 9-летних мидий. Априорная оценка численности выборки (Животовский, 1991), в которой с 95 %-ной вероятностью будет обнаружена хотя бы одна незараженная особь для такой экстенсивности инвазии оказывается равной 139 особям, в то время как всего было вскрыто 60 моллюсков 9-летнего возраста (см. таблицу).

Анализ интенсивности инвазии мидий метацеркариями *Himasthla elongata* показывает, что при постоянном росте ее медианного значения с возрастом хозяина, мода достигает максимума на 7-й год жизни мидии, а затем резко снижается (рис. 3). Кроме очевидного повышения агрегированности распределения паразита, это обстоятельство позволяет предположить существование дифференциальной смертности хозяина, которая проявляет себя только после 7-го года жизни. Если это предположение верно, то 7—8 метацеркарий на одну особь хозяина оказываются той интенсивностью инвазии, которая может снижать жизнеспособность части зараженных мидий на 8-ом и 9-ом годах жизни.

Наличие дифференциальной смертности (ДС) предполагается для многих паразит-хозяинных систем (Lauckner, 1983). Чтобы учесть влияние этого фактора в модель зараженности должен быть введен еще один параметр — коэффициент дифференциальной смертности (КДС), отражающий снижение вероятности выжить у зараженных особей по сравнению с незараженными

$$k_n = \frac{v_n^*}{v_n}, \qquad (5)$$

где v_n^* — вероятность выжить к возрасту n для зараженных, а v_n — незараженных особей соответственно.

Если ДС и соответственно КДС оказываются разными для разновозрастных особей хозяина, то формулу (2) лучше представить в рекуррентной форме:

$$P_1 = p,$$

а для любого другого возраста

$$P_{n+1} = P_n + p(1 - P_n), \qquad (6),$$

поскольку вероятность совокупности зависимых событий равна сумме их вероятностей, а на значение P_{n+1} в течение n-го промежутка времени может повлиять только вероятность заражения незараженных особей. Тогда вероятность оказаться зараженным в этой модели с учетом ДС будет равна

$$P_1 = k_1 p_1,$$
$$P_{n+1} = k_n\left(P_n + p(1 - P_n)\right), \qquad (7),$$

где k_n — коэффициент ДС для особей n-летнего возраста.

Оценить значение этого параметра модели, равно как и любого другого, можно, используя подбор значения параметра, при котором некоторая мера близости предсказываемых моделью и наблюдаемых значений окажется минимальной. В качестве такой меры близости модели и наблюдаемых значений может быть использована сумма абсолютных отклонений:

$$\sum_{n=1}^{\max} |I_n - P_n|, \qquad (8)$$

где I_n — эмпирическая доля зараженных особей хозяина в выборке n-го возраста, а P_n — теоретическая, вычисленная исходя из модели. Действительно, полученное таким образом значение вероятности заразиться за год (p) для модели без учета ДС (2), равное 0.3478, попадало в доверительный интервал выборочной оценки этого параметра $p' = 0.3476$ (0.3196—0.3761) и было близко к ней по значению. При этом значении параметра ($p = 0.3478$) сумма абсолютных отклонений (8) оказывалась меньшей для модели с учетом ДС (7), в которой все КДС принимались равными 1, кроме $k_8 = 0.926$. Это значение КДС для 8-летних особей также было получено методом минимизации суммы абсолютных отклонений (8).

ВЫВОДЫ

1. Как показано на примере зараженности мидий метацеркариями *H. elongata* в условиях бухты Круглая, простая вероятностная модель может хорошо описывать природную зараженность хозяина. Это обстоятельство позволяет сделать вывод о том, что в данном случае зараженность хозяина в целом определяется стохастическими причинами.

2. В некоторых случаях вероятность заражения может не зависеть от возраста и размера хозяина.

2. Эколого-паразитологический подход может быть малоприменим для анализа индивидуальных различий в резистентности хозяина и инвазионности паразита.

4. Применение подобных моделей позволяет определить изменение дифференциальной смертности с возрастом хозяина, что может быть очень важно

для понимания того, как реализуется жизненный цикл паразита либо его часть в конкретной экосистеме.

Авторы считают своим приятным долгом выразить глубокую благодарность к.б.н. А. М. Горбушину за идею исследования и ценное обсуждение.

Список литературы

Бергер В. Я., Кулаковский Э. Е., Кунин Б. Л., Луканин В. В., Ошурков В. В. Экология и перспективы культивирования мидии в Белом море // Исследование мидии Белого моря. Л.: ЗИН АН СССР, 1985. С. 98—114.

Животовский Л. А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991.

Луканин В. В. (ред.) Исследования мидии Белого моря. Л.: ЗИН АН СССР, 1985.

Луканин В. В., Ошурков В. В. Структура литоральных поселений мидий в Кандалакшском заливе Белого моря // Биология моря. 1981. № 5. С. 33—38.

Луканин В. В., Лангуев Н. К. Особенности экологии локального поселения мидии (Mytilus edulis L.) на беломорской литорали // Экологические исследования перспективных объектов марикультуры фауны Белого моря. Л.: ЗИН АН СССР, 1982. С. 17—24.

Савилов А. И. Рост и его изменчивость у беспозвоночных Белого моря Mytilus edulis, Mya arenaria и Balanus balanoides. Ч. I. Mytilus edulis в Белом море // Тр. Ин-та океанологии АН СССР. 1953. Т. 7. С. 198—258.

Сиренко Б. И., Саранчова О. Л. Двухлетние наблюдения за ростом мидий Mytilus edulis L. в садках в губе Чупа (Белое море) // Экологические исследования перспективных объектов марикультуры фауны Белого моря. Л.: ЗИН АН СССР, 1985. С. 23—28.

Сухотин А. А. (ред.) Исследования по марикультуре мидий на Белом море. СПб.: ЗИН РАН, 1993. 143 с.

Чемоданов А. В., Максимович Н. В. Внутренняя структура раковины Mytilus edulis L. в губе Чупа как отражение сезонной периодичности их роста // Моллюски: систематика, экология и закономерности распространения. Сб. 7. Л., 1983. С. 178—180.

Anderson R. M. Mathematical model for the study of the epidemiology and control of ascariasis in man // Ascariasis and its public health significance. London: Taylor and Francis, 1985. P. 39—68.

Anderson R. M. The role of mathematical models in helminth population biology // Int. Journ. Parasitol. 1987. Vol. 17. P. 519—529.

Anderson R. M., May R. M. Helminth infection of humans: mathematical models, population dynamics and control // Adv. Parasitol. 1985. Vol. 24. P. 1—101.

Jørgensen C. B. Bivalve Filter Feeding: Hydrodynamics, Bioenergetics, Physiology and Ecology. Denmark: Olsen and Olsen, 1990. 144 p.

Lauckner G. Diseases of Mollusca: Bivalvia // Diseases of marine animals. Vol. 2 / Ed. Kinne O. Hamburg: Biologishe Anstalt Helgoland, 1983. P. 477—961.

Werding B. Morphologie, entwicklung und ökologie digener trematoden-larven der strandschpecke Littorina littorea // Mar. Biol. 1969. Vol. 3. P. 306—333.

Winter J. E. A critical review on some aspects of filter feeding in lamellibranchiate bivalves // Haliotis. 1978. Vol. 7. P. 71—87.

ЗИН РАН, СПбГУ, Санкт-Петербург, 199034

Поступила 10.02.2003

USAGE OF PROBABILISTIC MODEL FOR AN ESTIMATION OF A RATE OF INFECTION MUSSELS (MYTILUS EDULIS) BY METACERCARIAE HIMASTHLA ELONGATA (TREMATODA: ECHINOSTOMIDAE)

I. A. Levakin, K. E. Nikolaev

Key words: *Mytilus edulis*, *Himasthla elongata*, Trematoda, mathematical models, metacercariae probability of infection.

SUMMARY

A comparison of simple probability analytic model of infection rate depending on host's age with natural infection rate of mussels (Bivalvia: Mythilidae) with metacercariae *Himasthla elongata* (Trematoda: Echinostomidae)was carried out. Data on the natural rate of infection were accumulated during 3 years; 1152 individuals *M. edulis* were collected in two horizons

within fucoid zone of the Kruglaya inlet and the Chupa inlet of the Kandalaksha bay (White Sea). A size of shell and number of *H. elongata* metacercariae were defined for each mussel using compressive dissection technique. The infection of mussels per year within our model is considers as independent evens: $P_n = 1 - (1 - p)^n$, where n is the age of mussels, P_n is the theoretical part of infected n-year mussels, p is the probability of infection within one year. The probability of infection within year is assumed equal for every age of host. The estimate of probability of infection per year on the basis of sample of n-year's mussels was calculated as $p'_n = 1 - \sqrt[n]{1 - I_n}$, where n is the age of mussels, I_n is the part of infected n-year mussels. The retransformed weighted average value of arcsine-transformed p'_n was used as p in our model (p=0.3476). Statistically significant differences between empirical and theoretical (calculated from our models on the basis this value) infection rates were not found ($P >> 0.05$ χ^2-test). Moreover, statistical significant differences were absent ($P > 0.05$ Fisher exact test) in pairwise comparisons between empirical and theoretical infection rates for each age of mussels.

The model does not take into consideration an effect of such factors as host's resistance, host's migration and increase of mortality in infected hosts. The absence of significant differences between the empirical and theoretical infection rates allows to suggest, that mentioned factors under the conditions of the Kruglaya inlet do not influence essentially onto infection of mussels with metacercariae *H. elongata.* This conclusions is in certain inconsistency with essential differences in such characteristic as an individual resistance of mussels to the infection with metacercariae *H. elongata*, detected in experiments *in vitro* (Gorbushin, Levakin, unpublished data). Analysis of intensity of the invasion of metacercariae *H. elongata* into mussels allows to suggest the existence of differential death rate of the hosts, which is exhibited in individuals over 7 years old. Studied example of mussels infected with metacercariae *H. elongata* under conditions of the Kruglaya inlet shows that the simple probabilistic model of the natural infection rate is usable for this kind of investigation. Our study also allows to conclude that in this case the infection rate of hosts is mainly determined by stochastic reasons. However, in some cases the probability of infection rate may not depend on the age and size of the host. The study of infection rate can not be used for analyses of individual differences of hosts in a resistance to parasites and an infection ability of the parasite.